

# A importância do controle de qualidade dos inoculantes

---

CARVALHO, G. A. B.<sup>1,2</sup>; FERREIRA, E.<sup>2</sup>; HUNGRIA, M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Norte do Paraná- CLM- Rodovia BR-369 Km 54, Vila Maria, CP261, 86360-000, Bandeirantes, Paraná.

<sup>2</sup>Embrapa Soja, Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina-Paraná.

e-mail: gesiele@cnpso.embrapa.br

## Introdução

O nitrogênio é um elemento essencial para se obter uma boa produtividade das culturas e, frequentemente, é o nutriente crítico para o adequado estabelecimento das lavouras. Contudo, embora o N<sub>2</sub> constitua 80% dos gases atmosféricos, que também difundem para o espaço poroso do solo, nenhum organismo eucarionte é capaz de absorver o N<sub>2</sub> e convertê-lo a uma forma assimilável, devido à tripla ligação que existe entre os dois átomos de N (N N) (MORGANTE, 1997).

Dessa forma, as fontes mais utilizadas para suprir a necessidade das plantas em N são os fertilizantes nitrogenados e o processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN), resultante da simbiose de plantas, especialmente leguminosas, com bactérias diazotróficas, os rizóbios (HUNGRIA et al., 2001). Entretanto, sabe-se que a síntese dos fertilizantes nitrogenados exige um elevado gasto energético, relacionados ao processo e mão-de-obra envolvidos na produção; gasto com o transporte até o campo; além de que raramente mais de 1/3 do fertilizante nitrogenado aplicado é aproveitado nas culturas, sendo perdido por desnitrificação, nitrificação e lixiviação, podendo causar a poluição de lagos e rios (ARAÚJO; HUNGRIA, 1994). Por outro lado, inoculantes microbianos contendo rizóbios selecionados e eficientes no processo de FBN conseguem suprir as plantas em N, mas com as vantagens de menor custo para o agricultor; diminuição nos problemas ambientais, pois não contaminam o ambiente e, ainda, manutenção da fertilidade do solo (ARAÚJO; HUNGRIA, 1994).

Este trabalho é conduzido visando verificar a qualidade dos inoculantes microbianos, pela determinação dos parâmetros de número mínimo de células e presença de contaminantes, conforme exigido pela legislação brasileira.

## Desenvolvimento

Por definição, inoculante é todo produto que contenha micro-organismos favoráveis ao crescimento das plantas. Desse modo, os inoculantes representam o veículo de transporte de bactérias selecionadas. No caso do nosso estudo, as bactérias são rizóbios microssimbiontes da cultura da soja.

Atualmente, no mercado brasileiro, existem inoculantes em duas formas físicas: sólidos (em pó, tendo a turfa como suporte para as bactérias) e fluídos (líquidos, com a bactéria estabilizada em seus processos metabólicos por protetores celulares).

A formulação de cada inoculante deve conter apenas as estirpes recomendadas pelo MAPA. Atualmente a legislação brasileira exige uma concentração mínima de  $1 \times 10^9$  células viáveis por grama ou mL do produto e ausência de contaminantes na diluição de  $1 \times 10^{-5}$ . Além disso, a pesquisa recomenda, para o caso da soja, que a dose de inoculante aplicada deva fornecer, no mínimo, 1,2 milhões de células viáveis por semente de soja (QUEIROZ, 2005).

Assim, antes de serem comercializados, esses insumos devem passar por análises quantitativas e qualitativas realizadas por laboratórios autorizados, para garantir a eficiência da FBN no aumento da produtividade e na redução de custos para o agricultor.

## Metodologia

A amostra do produto a ser testado deve ser composta por duas subamostras, "A e B", que deverão ser devidamente identificadas e homogeneizadas. Todos os cuidados normais de assepsia devem ser observados durante o procedimento.

O ensaio inicia com a diluição seriada das subamostras em solução salina esterilizada (0,85% de NaCl). As diluições selecionadas,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  e  $10^{-7}$ , são semeadas por espalhamento nas placas de Petri contendo o meio de cultura YMA – yeast extract, manitol, agar - (VINCENT, 1970) com vermelho Congo (corante e indicador de contaminantes).

Em seguida, as placas são incubadas, em posição invertida, na estufa de crescimento a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  pelo período de cinco a oito dias (bactérias de crescimento lento, como *Bradyrhizobium*) ou dois a três dias (bactérias de crescimento rápido, como *Rhizobium*).

Depois desse período, é efetuada a contagem do número de colônias (UFC) das diluições, fazendo, em seguida, uma média de cada diluição. Na próxima etapa, multiplica-se a média do número de UFC pela diluição contada e pelo fator de correção 10 (correção da alíquota de 100  $\mu\text{L}$  para 1 mL), determinando o número de UFC por grama ou mL do produto testado. Levando em consideração que a concentração mínima exigida pela legislação brasileira é de  $1 \times 10^9$  células viáveis por g ou mL, os produtos que estiverem dentro dessa concentração poderão ser comercializado.

## Conclusões

Conclui-se que esse controle de qualidade dos inoculantes microbianos é de extrema importância, pois proporciona uma maior segurança ao agricultor em relação à qualidade dos produtos e uma garantia de boa produtividade, com baixos custos, mantendo uma boa qualidade do solo e, ainda, preservando o meio ambiente.

## Referências

- ARAÚJO, R. S., HUNGRIA, M. **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa SPI, 1994. (Embrapa, Documentos, 44).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. (Embrapa Soja. Circular Técnica 35/ Embrapa Cerrados. Circular Técnica 13). 48p.

MORGANTE, P. G. **Fixação biológica e assimilação de nitrogênio**. Piracicaba: ESALQ-USP, 1997.

QUEIROZ, M.A. Fiscalização e registro de inoculantes para a agricultura no Brasil. In: TALLER IBEROAMERICANO SOBRE NORMATIVA Y CONTROL DE CALIDAD DE INOCULANTES PARA LA AGRICULTURA, 1., 2005, Salvador. **Programa y resúmenes**. Salvador: FIOCRUZ: CYTED: BIOGRAG, 2005. p. 16

Vincent, J.M. 1970. **A manual for the practical study of root nodule bacteria**. Blackwell Sci. Publ., Oxford, UK.